

University of Groningen

The role of visual adaptation in cichlid fish speciation

Wright, Daniel Shane

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Wright, D. S. (2019). The role of visual adaptation in cichlid fish speciation. [Groningen]: University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Nederlandse Samenvatting

Translation by: Gerrit Potkamp

Soortvorming – het proces waarbij nieuwe soorten worden gevormd – is al vele jaren het onderwerp van intensief wetenschappelijk onderzoek. Hoewel evolutiebiologen grote stappen hebben gemaakt in het beter begrijpen van de complexiteit van dit proces, blijven veel spannende hypothesen onontgonnen. Het onderzoek in dit proefschrift bestudeert hoe ecologische adaptatie soortvorming kan initiëren of eraan kan bijdragen, met speciale aandacht voor seksuele communicatie en partnerkeuze.

Soortvorming behelst het ontstaan van barrières die de uitwisseling van genen tussen populaties voorkomen. De lokale omgeving kan in dit proces een belangrijke rol spelen. Individuen en populaties moeten het hoofd bieden aan lokale omstandigheden; zij die beter zijn aangepast aan de omgeving zullen beter overleven en reproduceren. Als omgevingsomstandigheden variëren tussen populaties, zal lokale adaptatie leiden tot differentiatie tussen populaties en zorgen voor barrières voor genenuitwisseling. Ecologische adaptatie kan daarom een krachtige factor zijn in soortvorming en functioneren als een belangrijke initiator van isolatie.

Zelfs wanneer verschillen in de omgeving aanwezig zijn kunnen individuen van afzonderlijke populaties nog steeds kruisen. Dit kan lokale adaptatie belemmeren, omdat gunstige, populatiespecifieke combinaties van genen worden verstoord. Echter, als paring assortatief is, dat wil zeggen dat lokaal aangepaste individuen alleen met elkaar paren, kunnen gunstige combinaties van genen worden behouden, waardoor lokale adaptatie en differentiatie tussen populaties kunnen plaatsvinden. Zo kan een sterke associatie tussen lokale adaptatie en niet-willekeurige paring ontstaan, die niet kan worden doorbroken door kruising en genenuitwisseling. De gezamenlijke invloed van ecologische adaptatie en assortatieve paring is goed onderbouwd; enkele van de sterkste indicaties komen van studies naar *sensory drive*, waarin de capaciteiten van de zintuigen zowel het functioneren in de lokale omgeving als de perceptie van potentiële partners beïnvloeden.

De *sensory drive* hypothese voorspelt dat de sensorische omstandigheden in de lokale omgeving evolutie in een bepaalde richting ‘drijven’; zintuigen, baltssignalen, en baltsgedrag co-evolueren met de lokale omgeving. Deze hypothese voorspelt dat individuen vaker zullen paren met een partner die ze gemakkelijker detecteren en dat paringsvoorkeuren sterker zullen zijn voor baltssignalen die opvallen in de lokale omgeving. Elke verandering in de zintuigen kan resulteren in een verschil in voorkeur, omdat deze verandering signalen meer of minder aantrekkelijk kan maken. De lokale omgeving kan het signaal ook direct beïnvloeden; individuen met signalen die beter zijn aangepast voor transmissie en perceptie in een bepaalde omgeving zullen succesvoller zijn. Beide factoren zijn belangrijk, maar de theorie suggereert dat omgevingseffecten op voorkeuren mogelijk krachtiger zijn in het veranderen van paringspatronen en daarmee de evolutie van reproductieve isolatie.

De meeste voorbeelden van *sensory drive* komen van visuele adaptatie in aquatische organismen, omdat het omgevingslicht in water sterk verandert met toenemende diepte of troebelheid. Deze uitgesproken en stabiele variatie in visuele condities vereist aanpassingen in de signalen en visuele eigenschappen van aquatische soorten aan te passen. Aquatische omgevingen bieden daarom een natuurlijk laboratorium om *sensory drive* te bestuderen.

Enkele van de sterkste voorbeelden hiervan zijn te vinden in vissen; eerder onderzoek heeft *sensory drive* aangetoond in guppy's, stekelbaarsjes, killivissen, zwaarddragers, en verschillende baarsachtigen. *Sensory drive* is ook in verband gebracht met de snelle soortvorming in de kleurrijke cichliden uit het Victoriameer. Cichliden zijn hier uitgewaaid in maar liefst 500 verschillende soorten (in slechts ~15000 jaar), en de kleur van mannetjes en visuele adaptatie worden verondersteld hierin een belangrijke rol te hebben gespeeld. In dit proefschrift test ik experimenteel de link tussen gezichtsvermogen en partnerselectie in cichliden uit het Victoriameer.

Vissen hebben, net als mensen, visuele pigmenten in hun netvliezen, bestaand uit een lichtgevoelige chromofor gebonden aan een opsine-eiwit. Er zijn verschillende klassen van opsines, elk maximaal gevoelig voor verschillende golflengten van licht (kleur). De relatieve expressieniveaus van deze verschillende opsines bepalen de kleurwaarneming. Eerdere studies hebben aangetoond dat in veel vissoorten (waaronder cichliden) lichtomgeving-geïnduceerde veranderingen in opsine expressie mogelijk zijn, met gevolgen voor visueel gedrag. Ik heb dit fenomeen gebruikt als een experimentele aanpak om de link tussen visuele perceptie en visueel gedrag in *Pundamilia* cichliden te onderzoeken.

Pundamilia pundamilia en *Pundamilia nyererei* zijn twee nauwverwante soorten rotscichliden die samen voorkomen in het open water en langs rotsachtige eilanden in het zuidoostelijke deel van het Victoriameer. Mannetjes van de twee soorten zijn helder gekleurd (*P. pundamilia* blauw, *P. nyererei* rood), terwijl vrouwtjes van beide soorten geel/grijs gekleurd zijn. De soorten hebben zich op sommige locaties vermengd en daarna opnieuw gesplitst in vergelijkbare blauwe en rode vormen, bekend als *P. sp. 'pundamilia-like'* en *P. sp. 'nyererei-like'*. De twee vormen vertonen ecologische verschillen op alle locaties: de blauwe soort leeft in ondiep water, terwijl de habitat van de rode soort zich uitstrekt naar grotere diepten. Vanwege de hoge troebelheid van het Victoriameer verschuift het omgevingslicht met toenemende diepte richting langere golflengtes, zodat de rode soort in een omgeving leeft die grotendeels verstoken is van korte golflengtes (blauw licht). De kleur van mannetjes is belangrijk voor de voorkeur van vrouwtjes voor mannetjes in beide soorten (vrouwtjes kiezen voor mannetjes van dezelfde soort gebaseerd op blauwe tegenover rode kleur), en gedragstesten voor visuele sensitiviteit corresponderen met de kleur van het mannetje; de rode soort (*P. nyererei*) is gevoeliger voor licht met een lange golflengte (rood) en de blauwe soort (*P. pundamilia*) is gevoeliger voor licht met een korte golflengte (blauw). Deze verschillen correleren met soortspecifieke variatie in de eigenschappen van het visuele systeem: de rode *P. nyererei* / *P. sp. 'nyererei-like'* bezitten veelal een opsine dat gevoeliger is voor rood licht dan de corresponderende opsine van de blauwe *P. pundamilia* / *P. sp. 'pundamilia-like'*. Deze factoren – verschillen in visuele omgevingen, de kleur van mannetjes, de voorkeur van vrouwtjes voor bepaalde mannetjes – wijzen samen in de richting van *sensory drive* als een mechanisme van soortvorming in *Pundamilia*.

Zoals hierboven besproken zijn er meerdere studies gedaan naar partnerkeuze en visuele perceptie in *Pundamilia*. De geobserveerde correlatie tussen de visuele omgeving en soortspecifieke visuele eigenschappen en paringsvoorkeuren kan echter op verschillende

manieren tot stand zijn gekomen. Visuele adaptatie kan bijvoorbeeld functioneren als een zogeheten ‘magisch kenmerk’, dat tegelijkertijd zowel de ecologische prestaties als de partnerkeuze beïnvloedt. Anderzijds, de correlatie tussen visuele eigenschappen en partnervoorkeur kan zijn ontwikkeld door indirecte selectie, waarbij assortatieve paring tussen lokaal geadapteerde individuen leidt tot nakomelingen met een verhoogde fitness, waardoor de evolutie van soortassortatieve paringsvoorkeuren wordt gestimuleerd. In dit proefschrift heb ik geprobeerd om de mechanistische link tussen visuele perceptie en reproductieve isolatie te verkennen, en de rol van *sensory drive* als een oorzaak van de verschillende paringsvoorkeuren tussen blauwe en rode vormen van *Pundamilia* te testen. Om dit te doen heb ik de visuele omgeving van beide soorten in het laboratorium gemanipuleerd om veranderingen in de ontwikkeling van het visuele systeem te induceren. Vervolgens heb ik de gevolgen van deze veranderingen getest door de invloed ervan op visueel gemedieerd gedrag te onderzoeken en veranderingen in het visueel systeem te kwantificeren.

In **hoofdstuk 2** onderzochten we hoe de lokale lichtomgeving de voorkeur van vrouwtjes voor verschillend gekleurde mannetjes beïnvloed. We hebben vrouwtjes van beide soorten, evenals hybriden van de twee soorten, gekweekt in ondiep- en diep-nabootsende lichtomgevingen en testten daarna de partnervoorkeur van vrouwtjes voor blauwe tegenover rode mannetjes. De resultaten lieten zien dat het licht van de kweekomgeving de voorkeur significant beïnvloedt: vrouwtjes gekweekt in lichtomstandigheden die de ondiepe omgeving van het Victoriameer nabootsen gaven de voorkeur aan blauwe mannetjes, terwijl vrouwtjes gekweekt onder lichtomstandigheden die de diepe omgeving nabootsen waren geneigd een voorkeur te hebben voor rode mannetjes. Als gevolg hiervan waren soortassortatieve voorkeuren afwezig in de vrouwtjes die waren gekweekt in een ‘onnatuurlijke’ lichtomgeving (bijvoorbeeld: vrouwtjes van de blauwe soort gekweekt in de diepe omgeving hadden geen voorkeur voor blauwe mannetjes). Dit suggereert dat veranderingen in visuele perceptie partnervoorkeur direct kunnen beïnvloeden, en verstrekt daarmee, voor wat betreft het gedrag, ondersteuning voor de *sensory drive* hypothese.

Onze experimentele lichtmanipulaties kunnen ook de kleursignalen van mannetjes hebben beïnvloed. Daarom onderzochten we in **hoofdstuk 3** of er verschillen waren in de kleur van mannetjes. Soort-specifieke kleuring (blauw tegenover rood) werd niet beïnvloed door differentiële kweek, noch veranderde de kleur wanneer de mannetjes tijdens volwassenheid werden verplaatst naar de andere lichtomstandigheden. Dit komt overeen met voorspellingen van *sensory drive*: verschillen in kleursignalen van mannetjes tussen soorten, die het onderwerp van partnerkeuze van vrouwtjes zijn, veranderen niet als reactie op omgevingsomstandigheden. Dit betekent echter niet dat de kleur van mannetjes volledig vastligt. We observeerden een klein maar significant verschil in groene kleuring: diep-gekleekte mannetjes waren groener. Deze subtiele plasticiteit in kleur kan mannetjes kan misschien helpen bij het opvallen in een donkere omgeving of in een omgeving met een beperkt lichtspectrum.

Om te testen hoe variatie in opsine expressie bijdraagt aan visuele adaptatie onderzoekt **hoofdstuk 4** natuurlijke patronen van opsine expressie in wild gevangen vissen. Gedurende veldwerk in het Victoriameer bemonsterde ik blauwe en rode mannetjes van verschillende eilanden, met verschillende lichtomstandigheden, en vergeleek de relatieve opsine expressie tussen soorten op alle locaties. We vonden dat opsine expressie verschilde tussen de soorten, maar dit verschil was niet consistent tussen eilanden. Op twee locaties met helder water bracht de rode soort meer van het lange golflengte opsine (LWS; rood-gevoelig) tot expressie dan de blauwe soort, maar dit patroon was omgekeerd op twee locaties met troebel water. Eerder werk had al LWS polymorfismen geïdentificeerd, die ik later bevestigde in mijn monsters: de blauwe soorten (afkomstig van meerdere locaties) delen een versie die verschilt van de vorm gevonden in de rode soorten. Onze resultaten laten dus zien dat verschillen tussen soorten in opsine genotype niet consistent overeenkomen met verschillen tussen soorten in opsine expressie. Dit resultaat roept niet alleen vragen op over hoe het genotype en de expressie van opsines samen de visuele vermogens bepalen, maar heeft ook implicaties voor onze licht-gemanipuleerde lab populatie. Vissen die in ons experiment gebruikt werden waren afkomstig van een locatie waar, tegen de verwachting in, de blauwe soort meer LWS tot expressie brengt dan de rode soort. Onze lichtmanipulatie was gericht op het induceren van gecorreleerde verschuivingen in opsine expressie en kleurvoorkeur, gebaseerd op de aanname dat een hogere expressie van bijvoorbeeld LWS zou correleren met de voorkeur van vrouwtjes voor rode mannetjes. Gezien deze nieuw geobserveerde patronen van soortspecifieke opsine expressie is deze aanname wellicht niet correct voor onze experimentele populatie.

In **hoofdstuk 5** keerden we terug naar onze laboratoriumpopulatie om specifiek de genetische mechanismen te onderzoeken die visuele perceptie verbinden met reproductieve isolatie. Net als in hoofdstuk 4 hebben we de relatieve opsine expressie gemeten van vissen die waren gekweekt onder twee verschillende lichtomgevingen. We vonden dat de lichtmanipulaties opsine expressie significant beïnvloedden; diep-gekweekte vissen brachten bijvoorbeeld meer rood-gevoelig pigment tot expressie. Een hogere LWS-expressie was zwak gecorreleerd met de voorkeur van vrouwtjes voor rode mannetjes (uit hoofdstuk 2). Echter, zoals hierboven beschreven is dit in tegenstelling tot de patronen geobserveerd op populatieniveau in onze vissen (in de blauwe soort zien we een hogere LWS-expressie en een voorkeur van vrouwtjes voor blauwe mannetjes). Bovendien was het verband tussen expressie en voorkeur onafhankelijk van de licht-geïnduceerde veranderingen in expressie, en dus kunnen we geen direct, causaal verband afleiden. We hebben ook het LWS opsine genotype vastgesteld van de vrouwtjes die getest waren voor voorkeursgedrag, en vonden dat ook LWS genotype verband hield met voorkeur - maar alleen wanneer vrouwtjes getest waren in de ondiepe (breedspectrum) lichtomgeving. Deze bevindingen bevestigen samen dat visuele perceptie een rol speelt in het voorkeursgedrag van vrouwtjes, maar ze schieten tekort in het vaststellen van een causaal verband tussen de twee. Ons onvermogen om te bewijzen dat visuele adaptatie (dat wil zeggen, relatieve opsine expressie) een ‘magisch

kenmerk' is sluit het bestaan van zo'n mechanisme echter niet uit. Het is mogelijk dat ander visuele eigenschappen (bijvoorbeeld opsine genotype) deze rol vervullen.

Visuele adaptatie aan verschillende lichtomgevingen impliceert dat een discrepantie tussen het visuele systeem en de lokale lichtomgeving zou moeten leiden tot een verlaagde prestatie in visuele taken. Ik testte deze hypothese in **hoofdstuk 6**. Ik onderzocht de foerageerprestaties van vissen, getest in hun 'natuurlijke' lichtomgeving (blauwe vissen in ondiep, rode vissen in diep) en 'onnatuurlijke' lichtomgeving (blauwe vissen in diep, rode vissen in ondiep) en vond dat de 'natuurlijke' omgeving leidde tot een hogere prooivangst. Dit suggereert dat elke soort visueel is aangepast om de foerageerprestaties te maximaliseren in hun eigen omgeving. Om een causaal verband tussen visuele perceptie en prestatie te leggen heb ik ook het effect van onze manipulaties van kweeklicht onderzocht. Ik vond zwakkere effecten: vissen gekweekt in de diepe lichtomgeving vingen een beetje meer prooi dan hun ondiep-gekweekte tegenhangers. Dit suggereert dat omgevingsgeïnduceerde veranderingen in opsine expressie (zoals gezien in hoofdstuk 5) de visuele prestaties niet sterk beïnvloeden. Samen wijzen de resultaten van hoofdstuk 5 en 6 op het belang van soortspecifieke (visuele) factoren, vermoedelijk genetisch, voor visuele taken.

Dit proefschrift gebruikte een integratieve aanpak om de rol van visuele adaptatie in soortvorming te onderzoeken. We gebruikten gedragsanalyses, kleuranalyses, karakterisering van het visuele systeem, en veldonderzoek om de voorspellingen van de *sensory drive* hypothese te testen in *Pundamilia* cichliden. Onze lichtmanipulaties beïnvloedden zowel visueel gemedieerd gedrag (partnervoorkeur van vrouwtjes) als de ontwikkeling van het visuele systeem (relatieve opsine expressie), maar we waren niet in staat een causaal verband tussen deze twee te leggen. We genotypeerden ook vrouwtjes voor variatie in het LWS opsine en vonden dat het genotype covarieerde met het voorkeursgedrag van vrouwtjes. In wilde populaties vonden we dat soortspecifieke patronen van opsine expressie niet consistent overeenkomen het opsine genotype, de kleur van het mannetje, en de voorkeur van het vrouwtje. Samen suggereren deze resultaten dat in plaats van opsine expressie, het genotype fungeert als het oorzakelijk verband tussen kleurperceptie en partnervoorkeur. Toekomstig onderzoek zal profiteren van het verder verkennen van dit verband, gebruikmakend van de beschikbare technieken om het opsine genotype te manipuleren.